

Новое в изучении множественной лекарственной устойчивости клеток рака молочной железы

А. А. Ставровская¹, Г. П. Генс²

¹ФГБНУ «РОНЦ им. Н. Н. Блохина»; Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24;

²кафедра онкологии и лучевой терапии ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова» Минздрава России; Россия, 127473, Москва, ул. Десятская, 20, стр. 1

Контакты: Алла Александровна Ставровская astavrovskaya@yahoo.com

Рак молочной железы (РМЖ) — самое распространенное онкологическое заболевание у женщин в России. Одним из основных видов лечения РМЖ является системная химиотерапия. Серьезным препятствием на пути успешного лечения РМЖ остается устойчивость опухолей к лекарственным препаратам, в первую очередь — множественная лекарственная устойчивость (МЛУ). В данном обзоре представлены данные последнего времени о молекулярных механизмах МЛУ, а также о некоторых новых биологических прогностических маркерах РМЖ. Разбираются данные, показывающие, что транспортные белки семейства ABC (ABC-транспортеры) влияют на опухолевую прогрессию не только путем индукции лекарственной устойчивости клеток, но и в связи с их участием в экспрессии признаков малигнизации. Рассмотрены результаты, свидетельствующие об участии ABC-транспортеров в процессах накопления стволовых клеток опухолей под влиянием химиотерапии. Обсуждается проблема участия сигнального пути PI3K/AKT/PTEN в регуляции МЛУ путем его влияния на активность ABC-транспортеров. Рассмотрены данные о влиянии нарушений регуляции микроРНК на МЛУ РМЖ, а также некоторые эпигенетические механизмы регуляции МЛУ. Среди новых прогностических маркеров МЛУ РМЖ обсуждаются серин-треониновая фосфатаза 2A, рецепторная протеинкиназа PTK7, фасцин — белок, способствующий связыванию нитей актина в пучки, многофункциональный белок YB-1. Обсуждаются перспективы исследований МЛУ при РМЖ.

Ключевые слова: рак молочной железы, прогрессия опухолей, множественная лекарственная устойчивость, биологические маркеры опухоли, транспортные белки семейства ABC, стволовые клетки опухолей

DOI: 10.17650/2313-805X.2015.2.1.039–051

News in the studies of multidrug resistance of breast cancer cells

A. A. Stavrovskaya¹, G. P. Guens²

¹N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center; 24 Kashirskoye Highway, Moscow, 115478, Russia;

²Department of Oncology and Radiology, A. I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Health of Russia; 20 Bldg. 1 Delegatskaya St., Moscow, 127473, Russia

Breast cancer (BC) is the most common cancer among women in Russia. One of the main treatment methods of BC is systemic chemotherapy. Multidrug resistance of tumor cells (MDR) is the important hindrance on the way to successful chemotherapy. The new data concerning molecular mechanisms of MDR will be presented in this review. The recent data concerning some new biological prognostic markers will be also discussed. There are data showing that transporters of ABC family (ABC transporters) influence tumor progression not only by MDR induction but also by the influence on the traits of malignancy in tumor cells. The results of the studies of ABC transporters' participation in the processes of accumulation of tumor stem cells under the influence of chemotherapy will be discussed. The problem of the participation of ABC transporters in the phenomenon of influence of PI3K/AKT/PTEN signal transduction pathway on the MDR regulation is discussed. The results of the studies of the role of microRNA deregulation in breast cancer drug resistance as well as studies of some epigenetic mechanisms of MDR regulation will be considered. Protein phosphatase 2A (PP2A, serine/threonine phosphatase), PTK7 (protein tyrosine kinase 7), fascin (an actin bundling cytoskeletal protein) multifunctional YB-1 protein will be considered as new BC prognostic markers. The perspectives of MDR studies will be discussed as well.

Key words: breast cancer, tumor progression, multidrug resistance, biological tumor markers, transporters of ABC family, tumor stem cells

Введение

Устойчивость новообразований к химиотерапии — проблема сложная. Это определяется прежде всего тем, что механизмы, определяющие лекарственную устойчивость опухолевых клеток, множественны и разнообразны. Схематически основные механизмы лекарственной устойчивости представлены на рис. 1.

Лекарственная устойчивость может быть связана с повышенной активностью транспортных белков семейства ABC (ATP-binding cassette), выводящих чужеродные вещества из клеток [1–4]. Такой тип лекарственной резистентности обычно называют множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), так как клетки с повышенной активностью ABC-транспортеров могут

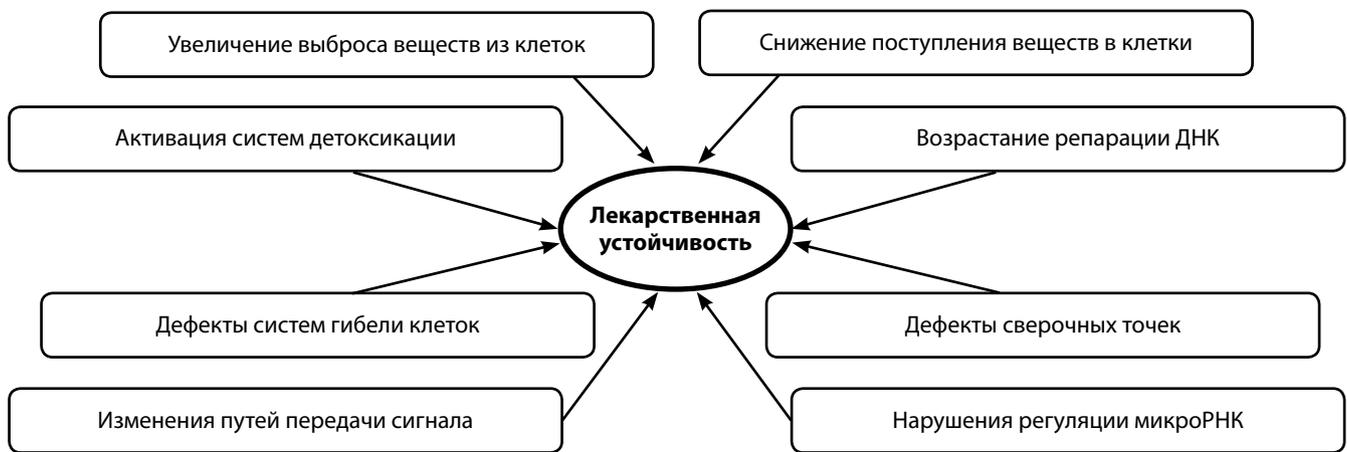


Рис. 1. Механизмы лекарственной устойчивости опухолевых клеток

стать устойчивыми к большому количеству веществ, разных по механизму действия и структуре. Среди этих веществ химиопрепараты, используемые при терапии рака молочной железы (РМЖ), – доксорубин, даунорубин, винбластин, паклитаксел [4]. Причиной резистентности к цисплатину может являться пониженное энергозависимое поступление препарата в клетки [5]. Резистентность к химиопрепаратам может быть связана с функционированием систем детоксикации, в частности с системой многоцелевых оксидаз P450 [6], а также с системами репарации ДНК [7]. Важным механизмом лекарственной устойчивости являются нарушения программ гибели клеток, например апоптоза [8]. Нарушения функционирования сигнальных путей клетки, вовлеченных в контроль ее пролиферации и выживания, также могут служить механизмом лекарственной устойчивости [9]. В последние годы появились данные о важной роли микроРНК в прогрессии и лекарственной устойчивости РМЖ [10]. Сочетания разных механизмов лекарственной устойчивости нередко обнаруживаются в клетках РМЖ. Лекарственная устойчивость опухолевых клеток тесно связана с основными признаками злокачественной трансформации [11], что еще раз подчеркивает сложность этой проблемы. В данной статье мы разберем подробнее новые данные, относящиеся к некоторым механизмам лекарственной устойчивости РМЖ, как предсуществующей, так и приобретенной в результате лечения.

Механизмы лекарственной устойчивости

Транспортные белки семейства ABC

Общая характеристика. Один из важных механизмов лекарственной устойчивости – транспортные белки семейства ABC (далее – ABC-транспортёры) [3]. Местом их локализации чаще всего является плазматическая мембрана клетки, через которую ABC-транспортёры перемещают свои субстраты. Этот процесс энергозависим. Активный транспорт субстратов может осуществляться против градиента концентрации

и зависит от гидролиза аденозинтрифосфата [3]. В геноме человека 48 генов кодируют ABC-транспортёры. Их разделяют на 8 подсемейств (ABCA–ABCH). Существует немало обзоров, посвященных этим белкам [1–4 и др.], поэтому здесь мы не будем подробно останавливаться на их общей характеристике. В табл. 1 представлены сведения относительно участия ABC-транспортёров в лекарственной устойчивости РМЖ [12–20], а также перечислены их ингибиторы [16, 21–27]. Как можно видеть, значительное количество разных транспортных белков влияет на чувствительность клеток РМЖ к широкому кругу лекарственных препаратов. Особняком в этом списке стоит транспортёр ABCC12. Его субстраты до сих пор не найдены. Однако этот транспортёр гиперэкспрессирован в опухолях молочной железы [17]. Можно надеяться, что его роль при РМЖ будет выяснена в ближайшее время. Интенсивные исследования показали, что основными ABC-транспортёрами, определяющими МЛУ различных новообразований, являются ABCB1, ABCC1 и ABCG2. Это, несомненно, относится и к РМЖ. Поэтому наибольшее внимание при исследовании МЛУ уделялось и уделяется именно этим белкам.

Ингибиторы ABC-транспортёров. Мы остановимся подробнее на модуляторах МЛУ, обусловленной ABC-транспортёрами. В наших предыдущих обзорах мы не разбирали проблему преодоления МЛУ. Между тем эта область очень важна и интенсивно разрабатывается. Изучение путей преодоления МЛУ, обусловленной активностью ABC-транспортёров, началось с работ, направленных на наиболее избирательное подавление транспортной активности этих белков, в первую очередь ABCB1 – Р-гликопротеина (Pgp). Большинство модуляторов были субстратами Pgp или двух других транспортёров (ABCC1, ABCG2) и ингибировали выброс противоопухолевых препаратов в системах *in vitro* и *in vivo* [21].

Около 30 лет назад Т. Tsung et al. показали, что блокатор кальциевых каналов верапамил усиливает цитотоксический эффект винкристина и винбластина

Таблица 1. Транспортные белки семейства ABC, определяющие лекарственную устойчивость клеток опухолей молочной железы

Ген (белок)	Препараты, выбрасываемые транспортером	Источник	Ингибиторы активности транспортеров	Источник
<i>ABCB1</i> * (Pgp, MDR1)**	Доксорубицин, винбластин, эпопозид, таксол	[12, 13]	Верапамил, циклоспорин А, валсподар (PSC833), элакридар (GF120918), ритонавир, хинидин	[21, 22]
<i>ABCC1</i> (MRP1)	Доксорубицин, даунорубицин, винбластин, колхицин, эпопозид, камптотецины, метотрексат	[12–14]	МК571, лейкотриен С4, пробенецид, бензбромарон и др.	[21, 22]
<i>ABCC4</i> (MRP4)	6-Меркаптопурин, 6-тиогуанин, метотрексат	[12–14]	Цифурин 1, цифурин 2 (ceefourin 1, ceefourin 2)	[23]
<i>ABCC5</i> (MRP5)	6-Меркаптопурин, 6-тиогуанин	[12–14]	Пробенецид, треквензин, силденафил	[22, 24]
<i>ABCC10</i> (MRP7)	Таксаны, винкаалкалоиды, Ара-С, гемцитабин	[14–16]	Цефарнитин, иматиниб, нилотиниб, лапатиниб, эрлотиниб, сорафениб, силденафил, варденафил	[16, 25–27]
<i>ABCC11</i> (MRP8)	5-Фторурацил, метотрексат, Ара-С	[14–16]	МК571	[16, 26, 27]
<i>ABCC12</i> (MRP9)	Не известно	[15–17]	Не известно	–
<i>ABCG2</i> (BCRP)	Митоксантрон, топотекан, доксорубицин, даунорубицин, иринотекан, иматиниб, метотрексат	[18–20]	Фумитреморгин С, gefитиниб, иматиниб, элакридар, тариквидар, бирикодар, силимарин, кверцетин, диадзеин	[21, 22]

Примечание. * – названия транспортеров по современной терминологии; ** – названия транспортеров (предыдущие терминологии), часто встречающиеся в литературе.

в клетках мышиноного лейкоза, резистентного к винкристину [28]. Затем было обнаружено, что иммуносупрессор циклоспорин А полностью подавляет устойчивость клеток лейкоза человека к винкристину и даунорубицину [29]. Эти эффекты были связаны с тем, что модуляторы взаимодействовали с сайтом связывания субстрата Pgp [30, 31]. Эти модуляторы принадлежат к ингибиторам МЛУ первого поколения [21], за ними последовали модуляторы более поздних поколений и клинические испытания ингибиторов. Клинические исследования ингибиторов выявили их высокую токсичность в тех концентрациях, которые ревертировали МЛУ [21]. Главными требованиями при получении модуляторов третьего поколения были отсутствие ингибирования оксидаз P450 и отсутствие влияния на фармакокинетику лекарственных препаратов [32]. В результате широкого поиска был найден модулятор третьего поколения тариквидар (антраиламид, XR9576), который в последние годы рассматривался как наиболее перспективный ингибитор МЛУ, определяемой активностью Pgp. В экспериментальных системах тариквидар в низких концентрациях потенцировал цитотоксический эффект нескольких противоопухолевых препаратов, включая доксорубицин, паклитаксел, эпопозид и винкристин [32]. Клинические испытания тариквидара пока не дали выраженных положительных результатов. Исследование влияния тариквидара на химиотерапию антрациклиновыми антибиотиками и таксанами 17 пациенток с РМЖ III–IV стадии не выявило существенного влияния модулятора на результаты терапии [33]. Два исследования (III фаза испытаний) по применению та-

риквидара при химиотерапии немелкоклеточного рака легкого пришлось прервать, так как больные, получавшие тариквидар, страдали от усиления токсического эффекта химиотерапии [32]. Хотя исследователи, занимающиеся клиническими эффектами тариквидара, продолжают работу и сохраняют определенные надежды на этот препарат, очевидно, что ситуация с применением ингибитора ABC-транспортеров третьего поколения достаточно сложная. Сложность эта связана, прежде всего, с физиологическими функциями Pgp в организме. Поскольку Pgp экспрессирован и функционален в эпителии почечных канальцев и в слизистой оболочке кишечника, ингибитор Pgp может влиять на всасываемость лекарств при пероральном приеме и на выделение препаратов через почки. Несмотря на явные неудачи клинических испытаний, эти работы продолжают. Исследователи надеются, что удастся объективно оценить эффективность и безопасность сочетанной терапии противоопухолевыми препаратами и ингибиторами ABC-транспортеров при изучении влияния ингибиторов на фармакокинетику лекарственных средств [32]. Неудачи в применении ингибиторов ABC-транспортеров в клинике, возможно, связаны также и с тем, что в резистентных клетках может быть экспрессировано несколько (даже много) разных ABC-транспортеров, обладающих разной субстратной специфичностью [34–36].

ABC-транспортеры и признаки злокачественной трансформации. ABC-транспортеры выполняют в клетке не только защитные функции, но могут влиять и на основные признаки злокачественной трансформации [37]. Так, показано, что ABCC1 (MRP1) участвует в ауто-

кринной регуляции пролиферации через стимуляцию выброса из клеток лизофосфолипида лизофосфатидинозитола, который, связываясь с соответствующим рецептором на поверхности клеток, стимулирует их размножение [38]. ABC-транспортеры выбрасывают из клеток такие биологически активные липиды, как простагландины и лейкотриены, которые способны активировать сигнальные каскады, регулирующие пролиферацию, миграцию, выживаемость клеток [39, 40]. ABCС1 в культивируемых клетках нейроblastом человека влиял на их выживаемость: нокдаун ABCС1 потенцировал гибель клеток [41]. Выведение в окружающую опухолевые клетки среду липидов и сигнальных молекул может влиять на экспрессию клетками цитоклинов.

Несколько ABC-транспортеров влияют на движение клеток. Так, индуцированная миграция периферических дендритных клеток в лимфоузлы сильно снижена у мышей ABCС1^{-/-} [42]. Если воздействовать на такие дендритные клетки лейкотриеном C₄ (субстратом ABCС1 – MRP1), то их движение нормализуется. Можно полагать, что ABCС1 принимает участие в аутокринной регуляции движения дендритных клеток у мыши. Было показано, что у человека ABCВ1 (Pgp) влияет на подвижность нормальных дендритных клеток. Нейтрализующие антитела к Pgp и ингибитор Pgp верапамил подавляли миграцию дендритных клеток [43]. Уменьшение экспрессии гена ABCВ1 в результате воздействия короткой интерферирующей РНК (siРНК) снижало миграцию клеток культуры РМЖ человека MCF-7 [44], клеток меланомы человека [45]. Введение ABCВ1 в клетки почки собаки линии MDCK повышало подвижность этих клеток, увеличивало их миграцию [46]. Таким образом, ABC-транспортеры могут влиять на опухолевую прогрессию не только через увеличение лекарственной устойчивости, но и через усиление злокачественных свойств клеток.

ABC-транспортеры и стволовые клетки опухолей. Роль ABC-транспортеров в эволюции опухолей тесно связана с их экспрессией в стволовых клетках опухолей (СКО). Существование СКО впервые было доказано в 1997 г. для острого лейкоза [47]. Под СКО понимают клетки, способные к самообновлению (способность делиться и существовать, не дифференцируясь при этом). Второй особенностью СКО является то, что часть дочерних клеток может дифференцироваться, образуя специфические для данной ткани элементы [47]. С самого начала проблема СКО оказалась тесно связанной с ABC-транспортерами: выяснилось, что некоторые из ABC-транспортеров гиперэкспрессированы в нормальных стволовых клетках и в СКО [2, 48]. Это прежде всего ABCG2, АВВ1 и ABCС1, а также ABCС5 [2, 49]. Появились данные, показывающие, что в нормальных стволовых клетках на определенных этапах их существования экспрессируется значительное число генов, кодирующих ABC-транспортеры [49].

Эти ABC-транспортеры могут не только участвовать в защите стволовых клеток, но и стимулировать их размножение и подвижность. Гиперэкспрессия ABC-транспортеров стволовыми клетками легла в основу одного из методов выделения стволовых клеток – метода боковой популяции [50]. ABCG2 (BCRP) выводит из клеток такие красители, как родамин 123 (Rh123) и Hoechst 33342. Способность к выбросу этих красителей отличает стволовые клетки от дифференцированных, которые после отмывания красителя остаются окрашенными. Боковая популяция, выделенная из культуры клеток РМЖ человека MCF-7, составила 2 % клеток культуры и могла образовывать опухоли при прививке животным [51].

Стволовые клетки опухолей

Для солидных опухолей существование СКО впервые было продемонстрировано на материале РМЖ. Было показано, что в популяциях РМЖ имеется малая фракция с фенотипом CD44^{high}/CD24^{low} [51]. При лечении больных РМЖ лекарственными препаратами может нарастать количество клеток, характеризующихся признаками СКО. Так, обнаружено, что после неoadъювантной химиотерапии в опухолях молочной железы увеличивается количество клеток с фенотипом CD44⁺/CD24⁻. Это происходит достаточно быстро – примерно через 12 нед лечения [52]. При этом повышалась способность клеток РМЖ формировать маммосферы, возрастала степень их опухолеродности при подкожном введении клеток экспериментальным животным [52]. Было показано, что транскрипция генов, характерных для СКО, возрастала при воздействии лекарственных препаратов [52]. В клетках больных РМЖ после неoadъювантной терапии наблюдалось повышение экспрессии транспортеров ABCВ3, ABCС7, ABCF2, ABCС5, ABCA12 [53].

Экспрессия ABC-транспортеров может способствовать накоплению СКО под влиянием противоопухолевых препаратов. В работе А. М. Calcagno et al. было показано, что клетки РМЖ человека линии MCF-7, выжившие после длительного воздействия доксорубицина, приобретают лекарственную устойчивость (клетки MCF-7/ADR), в основе которой – гиперэкспрессия ABCВ1 [54]. Продолжительная лекарственная селекция способствовала также появлению клеток, имеющих такой же фенотип, как и стволовые клетки РМЖ, – CD44⁺/CD24⁻ [54]. Клетки MCF-7/ADR более инвазивны *in vitro* (в камерах Бойдена, покрытых матригелем), чем родительская линия, обладают способностью формировать маммосферы и более опухолеродны при прививке мышам, что характерно для СКО.

При исследовании больных хроническим миелолейкозом нами были обнаружены достоверные различия в выживаемости пациентов в зависимости от наличия или отсутствия выброса Rh123 клетками крови и костного мозга. Хорошо известно, что о функциональной активности Pgp чаще всего судят по скорости

выведения клетками Rh123, являющегося субстратом Pgp. Таким образом, выживаемость больных была связана с наличием в лейкозных клетках функционально активного Pgp. Мы получили также данные, свидетельствующие о том, что при лечении иматинибом происходит накопление стволовых лейкозных клеток, характеризующихся фенотипом CD34+/CD38– и экспрессией Pgp и других ABC-транспортеров [55]. Все эти данные показывают, что разные препараты могут способствовать накоплению СКО в опухолях молочной железы и других новообразованиях.

Изменения в путях передачи сигнала в клетках рака молочной железы

Благодаря применению методов секвенирования нового поколения удалось определить драйверные мутации генов и изменения числа копий генов при РМЖ [56]. Было исследовано около 900 случаев РМЖ всех основных молекулярных подтипов РМЖ (люминальные А и В, базальный, ErbB2, сходный с нормальным) [56–60] и обнаружено много повторяющихся от случая к случаю мутаций. Среди наиболее частых – мутации генов *TP53*, *PIK3CA*, *GATA3*, *PTEN* [56]. Изменения затрагивают два основных пути сигнальной трансдукции – PI3K/AKT и JUN/MAPK [56–60], при этом путь PI3K/AKT обычно активирован, а путь JUN/MAPK – подавлен. Изменения компонентов сигнального каскада PI3K/AKT (*PIK3CA*, *PIK3R1*, *AKTs*, *PTEN*) – взаимоисключающие, т.е. не встречаются в одном образце опухоли. Точно так же взаимоисключающими являются амплификация или гиперэкспрессия рецепторных тирозинкиназ (*IGF1R*, *EGFR*, *ErbB2*) и изменения каскада PI3K/AKT. Это позволяет полагать, что при РМЖ нарушения рецепторных тирозинкиназ прежде всего необходимы для активации пути PI3K/AKT [56]. A. Guille et al. предполагают, что опухоль-ассоциированные генетические изменения приводят к переключению сигналинга в эпителии молочной железы – от активного пути JUN/MAPK к неактивному и от неактивного пути PI3K/AKT к активному [56]. В СКО путь PI3K/AKT может стимулировать их самообновление и/или пролиферацию, а путь JUN/MAPK может определять дифференцировку или остановку клеточного цикла. Клетки опухолей люминального подтипа размножаются медленнее клеток РМЖ других подтипов. Они являются наиболее дифференцированными. В люминальных опухолях чаще встречается амплификация циклина D1. Сочетание изменений циклина D1 и изменений пути PI3K/AKT может определять особенности фенотипа люминальных опухолей. Инактивация *TP53* встречается при всех подтипах РМЖ, но частота этого события повышена при более агрессивных подтипах, особенно при базальном [56].

Есть немало данных, свидетельствующих о том, что повышение или подавление активности сигнального пути PI3K/AKT/PTEN влияет на устойчивость опухолей к химиотерапевтическим препаратам, таким

как винкристин, паклитаксел, доксорубин [61–64]. Использование культивируемых клеток РМЖ показало, что в популяциях клеток, экспрессирующих рецепторы HER-2 и HER-3, отмечается повышенный уровень фосфорилирования АКТ (т.е. уровень активированной АКТ). При этом возрастает резистентность ко многим химиотерапевтическим препаратам (паклитакселу, доксорубину, 5-фторурацилу, этопозиду, камптотекану) [65]. Таким образом, сигнальный путь PI3K/AKT/PTEN вовлечен в регуляцию не просто лекарственной устойчивости, а МЛУ.

Одним из механизмов влияния сигнального каскада PI3K/AKT/PTEN на МЛУ является регуляция активности ABC-транспортеров отдельными элементами этого каскада. Так, мы показали, что введение экзогенного *PTEN* в клетки карциномы простаты PC3, так же как и обработка этих клеток ингибитором mTOR рапамицином, приводит к ингибированию активности киназ АКТ и mTOR и повышает чувствительность клеток к цитостатикам. При этом введение экзогенного *PTEN* приводит к изменению экспрессии генов *MRP1 (ABCB1)* и *BCRP (ABCG2)* [62].

Изменения активности сигнального пути PI3K/AKT/PTEN в результате введения гена *ST6GAL1* (β -галактозидаза $\alpha 2$, 6-сиалилтрансфераза, модулирующая активность фосфоинозитид-3-киназы) приводили к изменению активности Pgp (*ABCB1*) и *MRP1 (ABCC1)* [66]. Хотя активация сигнального пути PI3K/AKT/PTEN наблюдается в клетках разных новообразований, в опухолях молочной железы эти изменения особенно часты [67]. Активирующие этот путь генетические изменения могут выражаться в амплификации или гиперэкспрессии рецепторных тирозинкиназ HER-2, EGFR или IGF1R. Активирующие мутации в *PIK3CA*, каталитической субъединице PI3K, обнаруживаются в 36 % случаев РМЖ. Особенно часты они в опухолях люминального типа и в опухолях с амплификацией HER-2 (29–45 %) [68]. Встречаются и другие изменения элементов этого каскада, включая *PTEN*, нарушения которого наиболее характерны для трижды негативных опухолей.

В связи с такими результатами, применение ингибиторов тирозинкиназ (ИТК) для влияния на лекарственную устойчивость выступает на первый план. К сожалению, большая часть вновь полученных ИТК недостаточно специфичны, т.е. они ингибируют тирозинкиназы недостаточно селективно [21]. Кроме того, некоторые ИТК способны взаимодействовать с ABC-транспортерами, что может изменять фармакокинетику лекарственных средств, а также приводить к возникновению лекарственной устойчивости. Тем не менее в этой области проводится большая работа, в общих чертах отраженная в табл. 2. Очевидно, что дальнейшие исследования ИТК должны учитывать уже накопленные сведения, особенно в отношении изменений элементов сигнального пути PI3K/AKT/PTEN в опухолях разных биологических подтипов.

Таблица 2. Ингибиторы сигнального пути PI3K/AKT/PTEN (ИТК) (по данным обзора [67])

ИТК	Стадия разработки	Воздействие на элемент сигнального пути	Применение [69]
LY294002, вортманнин	Первая генерация	PI3K	Препараты токсичны <i>in vivo</i>
GDC-0941, XL-147, ВКМ120, GSK1059615	Следующая генерация	PI3K	Преclinical исследования
GSK690693, А-443654, МК-2206	То же	АКТ	Клинические исследования
Рапамицин, RAD001 (эверолимус), ССИ-779 (темсилолимус) и АР-23573 (деферолимус); AZD-8055, OSI-027 и др.	То же	mTOR	Клинические исследования

Нарушения регуляции микроРНК

В последнее десятилетие стало ясно, что важную роль в злокачественной трансформации клеток и в опухолевой прогрессии играют нарушения регуляции микроРНК. МикроРНК – это семейство малых одноцепочечных РНК длиной в 21–23 нуклеотида, не кодирующих белки. Они регулируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне. В большинстве случаев микроРНК действуют как репрессоры трансляции за счет связывания с матричной РНК (мРНК) [69]. МикроРНК – большой класс регуляторных РНК, вовлеченных в контроль экспрессии множества клеточных генов [10]. Сегодня известно более 5000 микроРНК у 58 видов, включая микроРНК, кодируемые геномами вирусов (miRBase, Release 10.0; <http://microrna.sanger.ac.uk>). МикроРНК участвуют в регуляции различных процессов в клетках РМЖ [70, 71]. В табл. 3 приведены примеры участия микроРНК в регуляции некоторых генов, опосредующих лекарственную устойчивость. Из этих примеров видно, что микроРНК регулируют гены, вовлеченные в МЛУ, в том числе гены, кодирующие элементы сигнального пути PI3K/AKT/PTEN, или гены ABC-транспортеров. Недавно появилось сообщение, что экспрессия miR-34a может являться фактором прогноза при РМЖ [72]. Разработан новый метод иммуногистохимического окрашивания срезов опухолей и оценки интенсивности окрашивания miR-34a [72]. Исследование трех когорт пациенток, включающих

примерно 1500 человек, показало, что с утратой miR-34a ассоциировано снижение выживаемости. Существенно при этом, что это относилось только к пациенткам, у которых не были поражены регионарные лимфоузлы [72]. Таким образом, в относительно благополучной группе больных РМЖ определение miR-34a позволило выделить группу повышенного риска. Это – первое исследование такого рода, однако качество работы и большое количество исследованных больных позволяют надеяться на подтверждение полученных результатов.

Метаболические ферменты первой фазы детоксикации ксенобиотиков (многоцелевые оксидазы)

Первая фаза детоксикации ксенобиотиков внутри клетки, или фаза окислительного метаболизма, осуществляется преимущественно ферментами семейства цитохрома P450 (СYP) и эпоксидгидролазами. Суперсемейство СYP включает 57 генов. Их классификацию и номенклатуру можно найти на сайте: <http://drnelson.utmem.edu/CytochromeP450.html>. Эти ферменты располагаются в митохондриях и эндоплазматическом ретикулуме и катализируют монооксигеназную реакцию, при которой один атом молекулы кислорода взаимодействует с субстратом, а другой восстанавливается до H₂O [73]. Терапевтические препараты метаболизируются микросомальными СYP (в основном фермен-

Таблица 3. Примеры влияния микроРНК на лекарственную устойчивость опухолевых клеток [71]

Активация микроРНК (upregulation)	Мишень микроРНК	Подавление микроРНК (downregulation)	Мишень микроРНК
miR-10a	Н. о.	miR-128	ABCC5 (MRP5)
miR-21	PTEN, PDCD4	miR-137	YB-1 (ABC1 опосредованно*)
miR-22	PTEN	miR-181a	ABCG2 (BCRP)
miR-222	PTEN	miR-298	ABC1 (MDR1)
		miR-505	AKT3

Примечание. Н. о. – не определяли; * – через влияние YB-1.

тами семейств СУР3А, 2D6 и 2С), и продукты этих реакций затем выводятся из клетки транспортерами подсемейства АВСС (MRP) [74, 75]. Таким образом, для жизнедеятельности клетки необходимо взаимодействие между двумя системами – системой многоцелевых оксидаз и АВС-транспортерами. Еще одной формой взаимодействия двух защитных систем клетки может быть частичная детоксикация ферментами СУР лекарственного препарата, что приводит к развитию лекарственной устойчивости.

Взаимодействию ферментов СУР, в первую очередь СУР3А4 (он обеспечивает 60–70 % метаболизма лекарств первой фазы), и Pgp (ABCB1) посвящен исчерпывающий обзор [75]. Установлено, что эти две системы защиты клетки тесно связаны как на уровне организма, так и на клеточном уровне. В настоящее время выявляются молекулярные механизмы таких связей. Одна из недавних работ убедительно демонстрирует, что в культивируемых клетках РМЖ линии MCF-7 происходит координированная регуляция экспрессии фермента первой фазы уридин-5-дифосфат глюкоунозилтрансферазы 1А4 (UGT1A4) и транспортеров семейства АВСС (MRP2, MRP7) [76]. В этих клетках координированная регуляция двух защитных систем осуществляется при участии рецептора эстрогенов α (ER α) и сигнального пути с-Myb. Совместная регуляция СУР3А4 и ABCB1 (Pgp) в клетках кишечника, гепатоцитах человека происходит при участии хорошо известного прегнан-Х-рецептора (PXR), который опосредует активацию транскрипции гена *СУР3А* в ответ на лекарственные препараты [77]. Проводится интенсивная работа по получению новых экспериментальных моделей, позволяющих исследовать взаимодействие двух защитных систем клетки.

Многofункциональный опухолевый супрессор p53

Хорошо известно, что инактивация функции белка p53 – наиболее частое молекулярное изменение в злокачественных опухолях. В 50–60 % новообразований человека (более чем 50 различных типов) обнаруживаются мутации гена *p53* [78]. Более 90 % мутаций *p53* представляют собой миссенс-мутации, приводящие к замене одной из аминокислот в молекуле белка на другую. Характерные для опухолевых клеток миссенс-мутации приводят к изменению конформации молекулы белка p53, что в значительной степени затрагивает его активность: происходит потеря или ослабление способности связывать и активировать гены с p53-респонсивными элементами, репрессировать другие специфические гены-мишени, ингибировать репликацию ДНК и стимулировать репарацию ДНК. Мутации *TP53* часто встречаются в опухолях молочной железы – примерно в 30 % всех случаев [79]. Их частота зависит от биологического подтипа опухоли: они обнаружены в 26 % новообразований люминального подтипа А, в 41 % – люминального В, в 50 % опухолей подтипа с амплификацией HER-2 и в 88 % при

трижды негативном (базальноподобном) подтипе [79]. Таким образом, белки-маркеры, определяющие подтип РМЖ, и TP53 тесно связаны, благодаря чему ответ клеток РМЖ на химиотерапию не определяется простой формулой «мутантный p53 приводит к лекарственной устойчивости». Показано, что при РМЖ с мутантным p53 наблюдается высокая частота ремиссий в ответ на химиотерапию доксорубицином–циклофосфамидом, в то время как при опухолях с p53 дикого типа полная ремиссия не наблюдается [79]. Авторы считают, что под влиянием химиотерапии может происходить не апоптоз, а старение клеточной популяции. Кроме того, было показано, что в ER+–опухолях молочной железы ER α подавляет p53-зависимый апоптоз, индуцированный повреждением ДНК [80, 81]. Есть данные, свидетельствующие о том, что ER α может регулировать транскрипцию *p53* [81]. Это, очевидно, относится не только к РМЖ, но и к опухолям яичника [81]. Таким образом, роль TP53 в лекарственной устойчивости РМЖ и опухолей яичника подлежит дальнейшему уточнению и, вероятно, пересмотру.

Новые биологические прогностические маркеры рака молочной железы и лекарственная устойчивость опухолевых клеток

В литературе периодически появляются сообщения об обнаружении и исследовании новых прогностических маркеров РМЖ. Маркеры принадлежат к разным компартментам и к разным путям сигнальной трансдукции клетки и в целом достаточно распространены в опухолях молочной железы [82].

PP2A (protein phosphatase 2A). Выше уже отмечалась важная роль сигнального пути PI3K/АКТ/PTEN в регуляции лекарственной устойчивости РМЖ. В последнее время появились данные, показывающие, что еще один участник этого сигнального каскада может являться маркером РМЖ и влиять на его чувствительность к терапии: оказалось, что частым событием, характеризующим РМЖ, является нарушение регуляции белка PP2A – серин-треониновой фосфатазы 2А [83]. PP2A, так же как фосфатаза PTEN, снижает активность сигнального каскада, основным элементом которого является PI3K [83]. Показано, что регуляция PP2A нарушена почти в 60 % случаев РМЖ базального типа и типа HER-2+, в 52 % опухолей люминального В-подтипа [83]. Нарушения PP2A приводят к повышенной чувствительности клеток к ингибитору PP2A FTY720, который предлагается использовать для лечения таких новообразований [83].

PP2A является опухолевым супрессором (антионкогеном), который приводит к подавлению в клетках целого ряда процессов, ассоциированных с канцерогенезом и опухолевой прогрессией (рис. 2). Недавно было показано, что PPP2R3C (регуляторная субъединица PP2A) связывается с белком MЛУ Pgp и дефосфорилирует его [84]. Нокдаун PPP2R3C приводит к росту экспрессии Pgp на поверхности клеток и к по-

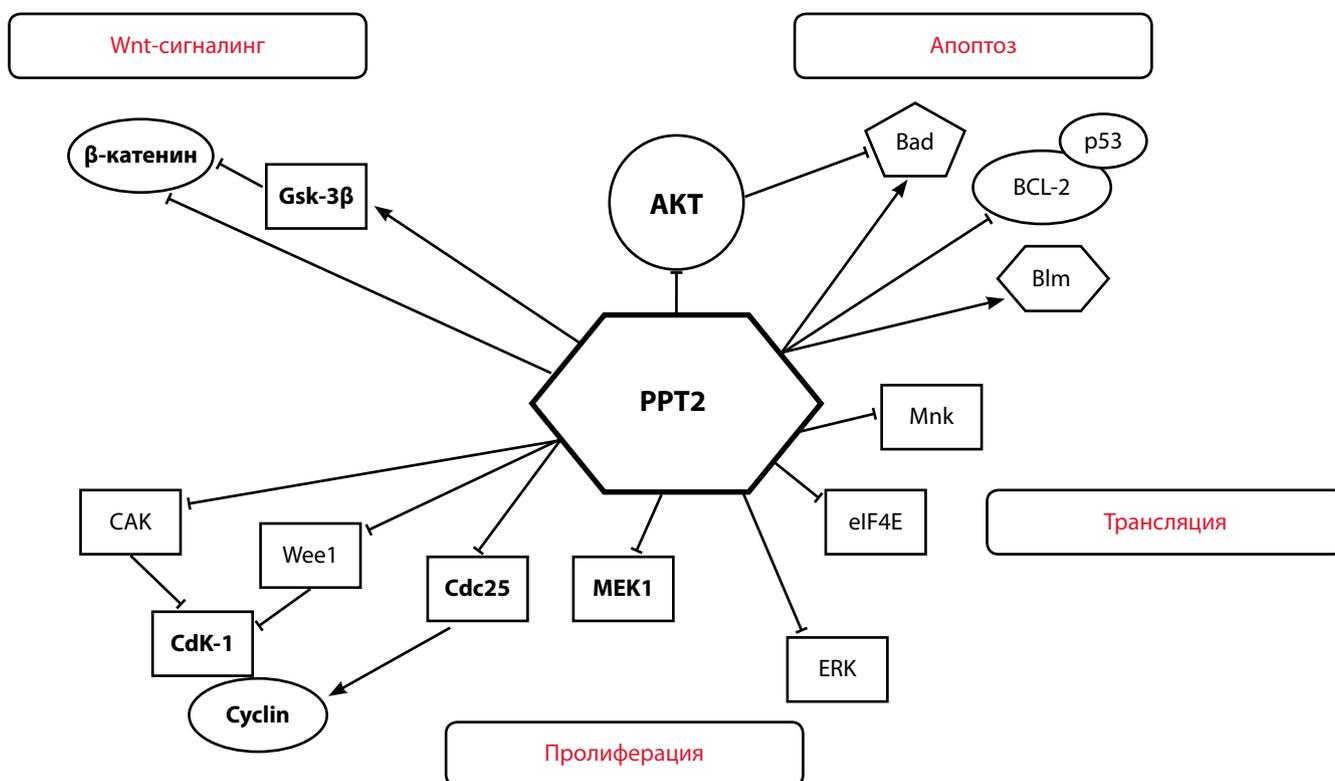


Рис. 2. Влияние фосфатазы PP2A на различные процессы клетки [85]

вышению активности этого транспортера, выводящего из клеток многие вещества. При этом возникает устойчивость клеток к винкристину и доксорубину. Высказано предположение, что с фосфорилированием Pgr связано созревание этого белка и транслокация его внутри клетки [84]. Эти данные — один из немногих примеров прямого участия антионкогена в регуляции экспрессии и активности Pgr. Дальнейшее исследование PP2A при РМЖ представляется перспективным [85].

PTK7 (protein tyrosine kinase 7). Недавно показано, что белок PTK7 может являться маркером РМЖ [86]. PTK7 принадлежит к семейству рецепторных протеинкиназ. Это высококонсервативный белок, участвующий в определении ряда признаков клетки и, в частности, полярности клеток в плоскости клеточного монослоя (planar cell polarity). PTK7 — трансмембранный белок, содержащий 7 иммуноглобулин-подобных петель, трансмембранный домен и каталитический тирозинкиназный домен [86]. Лиганд этого рецептора пока не идентифицирован.

Показано, что PTK7 активно участвует в сигнальном пути Wnt. Хорошо известно, что Wnt-путь регулирует эмбриональное развитие и дифференцировку клеток, и изменения активности Wnt часто ассоциированы с канцерогенезом и опухолевой прогрессией [87]. К рецепторам Wnt относятся трансмембранный белок Фрайзлед (Frizzled, Fz) и липопротеиды низкой плотности LRP5/LRP6, из антагонистов Wnt наиболее известным является PTK7. Различают канонический

(β-катенин-зависимый) и неканонические (β-катенин-независимые) пути воздействия Wnt на клетку. Канонический путь контролирует программы генной экспрессии, связанные с морфогенезом клетки, а неканонические пути регулируют полярность клетки, стимулируя реорганизацию цитоскелета и метаболизм кальция [87]. Было обнаружено, что PTK7 подавляет канонический путь Wnt и стимулирует активность неканонических [88]. Полагают, что PTK7 играет важную роль в миграции опухолевых клеток, их пролиферации, апоптозе, а также в ангиогенезе опухолей [86]. В исследовании [86] на 117 больных РМЖ впервые получены данные, свидетельствующие о том, что при РМЖ наблюдается корреляция между повышенной экспрессией PTK7 и агрессивностью РМЖ, а именно — способностью опухолевых клеток мигрировать из основного опухолевого узла в лимфоузлы, а также давать начало отдаленным метастазам. Сравнение влияния PTK7 на эффективность химиотерапии показало, что больные с повышенной экспрессией PTK7 резистентны к лечению антрациклинами.

Фасцин (Fn) принадлежит к группе белков, которые способствуют организации актинового цитоскелета. Хорошо известно, что цитоскелет играет важнейшую роль во многих биологических процессах и его организация имеет непосредственное отношение к клеточной подвижности, которая определяет процессы инвазии и метастазирования опухолевых клеток [89]. Показано, что повышение экспрессии Fn приводит к активному образованию протрузий мембраны и уве-

личению клеточной подвижности [90]. В норме Фн экспрессирован лишь в некоторых специализированных тканях, но при малигнизации оказывается, что этот белок экспрессируется в различных опухолях, включая опухоли молочной железы [91]. При этом обнаружена корреляция между экспрессией Фн и агрессивностью и метастазированием опухоли [91]. Недавно была выявлена выраженная связь между экспрессией Фн и резистентностью РМЖ к химиотерапии [92]. Было показано, что у больных РМЖ экспрессия Фн в клетках опухолей ассоциирована с более короткой общей и безрецидивной выживаемостью [92]. На модели ксено-трансплантатов у мышей авторы показали, что клетки, экспрессирующие Фн, более резистентны к химиотерапии, чем Фн-отрицательные клетки [92]. Гиперэкспрессия Фн ассоциирована с увеличенной экспрессией PI3K/AKT, IAP и пониженной экспрессией PTEN [92].

YB-1 (Y-бокс-связывающий белок 1). Белок YB-1 является членом суперсемейства белков клеток млекопитающих, обладающих эволюционно консервативным доменом холодового шока и связывающихся с ДНК и РНК. Этот белок участвует в целом ряде клеточных процессов, включая пролиферацию, дифференцировку и ответ на стрессовые воздействия (рис. 3) [93]. Продемонстрирована способность YB-1 усиливать или подавлять транскрипцию различных генов не только самостоятельно, но и через взаимодействие с другими транскрипционными факторами, например YY-1, AP-2, NF-kB/RelA, DbpA, NF-Y, p53, Snail1 [94, 95]. YB-1 участвует в сплайсинге мРНК, репликации и репарации ДНК [93, 94] (см. рис. 3). В цитоплазме YB-1, связанный с мРНК, входит в состав рибонуклеопротеиновых частиц. Участие YB-1 в регуляции трансляции зависит от его концентрации в клетке: показано, что низкая концентрация данного белка стимулирует трансляцию, а высокая — подавляет [93, 94]. Под контролем YB-1 находится синтез многих клеточных белков, в том числе белков клеточной защиты, определяющих лекарственную устойчивость опухолей (ABCВ1, он же Pgp; MVP/LRP), белков, участвующих в процессах клеточной пролиферации (ци-

клины А и В1, ДНК-полимераза альфа), рецепторов факторов роста (EGFR, HER-2), элементов внеклеточного матрикса (MMP-13, коллагена) и др. [93, 96–98]. Эти данные свидетельствуют о том, что YB-1 участвует в регуляции многих жизненно важных процессов клеток различных типов дифференцировки, являясь потенциальным кандидатом для исследования в качестве предикторного маркера прогрессии различных опухолей.

Проблема использования YB-1 в качестве предикторного маркера опухолей и РМЖ в частности обсуждается достаточно давно [99, 100]. Однако до последнего времени она оставалась нерешенной. Мы проводили систематические исследования данного вопроса [2, 101]. Исследования опухолей, взятых у больных при мастэктомии, показали присутствие YB-1 в ядре опухолевых клеток у 26 % больных и высокую экспрессию мРНК гена *YB-1* у 65 % пациенток; уровень экспрессии мРНК гена *YB-1* и локализация белка YB-1 не коррелировали друг с другом. Ядерная локализация белка YB-1 не ассоциирована с размером опухоли, поражением лимфатических узлов, экспрессией ER и рецепторов прогестерона. Мы показали, что ядерная локализация YB-1 не имеет прогностической значимости для больных РМЖ ($p = 0,34$) [102, 103]. Неoadъювантная химиотерапия способствует перемещению YB-1 в ядра клеток опухоли ($p = 0,04$). Выдвинута гипотеза, что ядерная локализация YB-1 может определять адаптацию опухолевых клеток к неблагоприятным условиям внешней среды, в том числе, вероятно, и к химиотерапии.

Уровень экспрессии другого исследованного нами показателя, содержания мРНК гена *YB-1*, не ассоциирован с размером опухоли, поражением лимфатических узлов, экспрессией ER и рецепторов прогестерона. Между количеством мРНК гена *YB-1* и экспрессией маркера пролиферации клеток Ki-67 обнаружена положительная корреляция ($r = 0,78$; $p = 0,05$). Это свидетельствует в пользу того, что белок YB-1 является позитивным модулятором пролиферации опухолевых клеток. Повышенная экспрессия мРНК гена *YB-1* и его цитоплазматическая локализация в опухолях молочной железы связаны с гиперэкспрессией генов МЛУ (*ABCВ1*, *ABCC1*, *ABCG2* и *LRP/MVP*), что подтверждает возможное участие YB-1 в регуляции генов МЛУ. Высокая экспрессия мРНК гена *YB-1* в ткани опухоли молочной железы статистически значимо коррелирует с ранним появлением отдаленных метастазов (относительный риск (ОР) = 0,38; 95 % доверительный интервал (ДИ) 0,15–0,96; $p = 0,03$) и худшей безрецидивной выживаемостью (ОР = 1,08; 95 % ДИ 0,42–2,81; $p = 0,6$) [102, 103]. Эти данные свидетельствуют о том, что высокое содержание мРНК *YB-1* в опухоли может рассматриваться как неблагоприятный прогностический признак при РМЖ. Определение количества мРНК *YB-1* среди больных с малыми опухолями (T1–2) позволяет выделить группу высокого риска

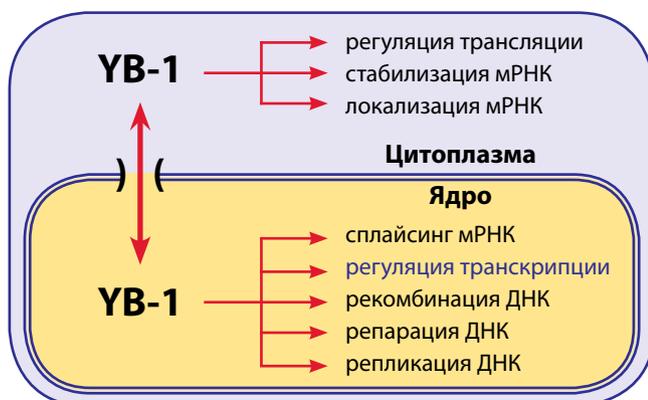


Рис. 3. Функции белка YB-1 в клетке

появления отдаленных метастазов в этой обычно благоприятной группе больных.

TET1 и эпигенетические механизмы регуляции признаков опухолевой клетки. TET1 относится к группе диоксигеназ, катализирующих деметилирование 5-метилцитозина в ДНК, в результате которого 5-метилцитозин окисляется до 5-гидрометилцитозина (5-hmC). Активность всех генов группы *TET* уменьшается в ряде новообразований, включая РМЖ, что коррелирует со снижением количества 5-hmC в опухолях [104]. Предполагается, что 5-hmC можно рассматривать как биологический маркер, снижение количества которого тесно связано с прогрессией опухоли [104]. На культуре клеток РМЖ MCF-7 показано, что ингибитор гистон-деацетилазы повышает экспрессию TET1 и снижает инвазию, а нокдаун TET1 увеличивает инвазию клеток [105]. Таким образом, TET1 выполняет функции антионкогена, подавляя признак малигнизации.

В целом метилирование генов играет значительную роль в прогрессии РМЖ [104]. Обнаружено, что подавление метилирования ДНК ассоциировано с возникновением лекарственной устойчивости клеток РМЖ [106, 107]. Так, исследование 4 маркеров (PITX2, BMP4, FGF4 и C20orf55) показало, что их метилирование позволяет прогнозировать длительность периода до появления отдаленных метастазов у больных с HER-2-негативным РМЖ, получавших антрациклины, и дает возможность выделить группу больных с высокой общей выживаемостью [108]. Оценка степени метилирования промоторов 14 генов показала, что отсутствие метилирования промоторной области гена МЛУ *ABCBI* коррелирует с прогрессированием заболевания в процессе лечения доксорубицином [108]. Сопоставление этих данных с общей выживаемостью больных РМЖ и их ответом на терапию доксорубицином показало, что метилирование *ABCBI* играет важную роль в ответе больных на доксорубицин [109], свидетельствуя об эпигенетической регуляции генов МЛУ при РМЖ.

Заключение

Исследования последнего времени подтвердили представления о том, что МЛУ опухолевых клеток — сложный, многокомпонентный феномен. Интенсивные исследования позволили охарактеризовать некоторые из механизмов МЛУ и продемонстрировали, что разные механизмы МЛУ могут быть взаимосвязаны и сосуществовать в одной клетке. Примеры такого сосуществования приведены выше. Для того чтобы представлять себе набор изменений, определяющих МЛУ данной клеточной популяции, необходимо иметь возможность охарактеризовать геномный ландшафт исследуемого сообщества клеток. Современный уровень методических подходов позволяет это сделать [110]. Это большая, сложная и дорогостоящая работа, однако она поможет выявить драйверные генетические изменения популяций малигнизированных клеток. Кроме того, перспективным на сегодняшний день представляется использование функционального протеомного анализа. Протеомный анализ направлен на одновременное изучение многих индивидуальных белков, совокупность которых характеризует исследуемую популяцию в целом. Среди методов протеомного анализа можно выделить использование белковых чипов с различными типами детекции. Белковые чипы основаны на связывании определенных белков со специфически взаимодействующими или связывающимися с ними молекулами, например специфическими антителами. При функциональном протеомном анализе используются антитела к фосфорилированным и нефосфорилированным формам белков [111]. В целом подобные подходы позволят выработать новые способы прогноза эффективности терапии, в том числе опухолей молочной железы.

В настоящем обзоре были подробно проанализированы способы преодоления МЛУ, обусловленной активностью ABC-транспортеров, свидетельствующие, что преодоление МЛУ — непростая задача, к сожалению, пока далекая от окончательного решения. Безусловно, эти исследования будут и должны активно развиваться.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ставровская А. А. Клеточные механизмы множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток (обзор). Биохимия 2000;65(1):112–26. [Stavrovskaya A. A. Cellular mechanisms of multiple drug resistance of malignant cells (review). Biokhimiya = Biochemistry 2000;65(1):112–26. (In Russ.)].
2. Ставровская А. А., Генс Г. П. Некоторые новые аспекты исследований множественной лекарственной устойчивости опухолевых клеток. Успехи молекулярной онкологии 2014;(1):5–11. [Stavrovskaya A. A., Guens G. P. Multidrug resistance of tumor cells: some new trends in research. Uspexhi molekulyarnoy onkologii = Advances in Molecular Oncology 2014;(1):5–11. (In Russ.)].
3. Gottesman M. M., Fojo T., Bates S. E. Multidrug resistance in cancer: role of ATP dependent transporters. Nat Rev Cancer 2002;2(1):48–58.
4. Dean M. ABC transporters, drug resistance, and cancer stem cells. J Mammary Gland Biol Neoplasia 2009;14(1):3–9.
5. Shen D. W., Goldenberg S., Pastan I., Gottesman M. M. Decreased accumulation of [¹⁴C] carboplatin in human cisplatin-resistant cells results from reduced energy-dependent uptake. J Cell Physiol 2000;183(1):108–16.
6. McDonnell A. M., Dang C. H. Basic review of the cytochrome p450 system. J Adv Pract Oncol 2013;4(4):263–8.
7. Salehan M. R., Morse H. R. DNA damage repair and tolerance: a role in chemotherapeutic drug resistance. Br J Biomed Sci 2013;70(1):31–40.
8. Lowe S. W., Ruley H. E., Jacks T., Housman D. E. p53-Dependent apoptosis modulates the cytotoxicity of anticancer agents. Cell 1993;74(6):957–67.
9. Davis N. M., Sokolosky M., Stadelman K. et al. Deregulation of the EGFR/PI3K/PTEN/Akt/mTORC1 pathway in breast cancer: possibilities for

- therapeutic intervention. *Oncotarget* 2014;5(13):4603–50.
10. Mulrane L., McGee S.F., Gallagher W.M., O'Connor D.P. miRNA dysregulation in breast cancer. *Cancer Res* 2013;73(22):6554–62.
 11. Hanahan D., Weinberg R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011;144(5):646–74.
 12. Szakács G., Paterson J.K., Ludwig J.A. et al. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006;5(3):219–34.
 13. Wind N.S., Holen I. Multidrug resistance in breast cancer: from in vitro models to clinical studies. *Int J Breast Cancer* 2011;2011:967419.
 14. Chen Z.S., Tiwari A.K. Multidrug resistance proteins (MRPs/ABCCs) in cancer chemotherapy and genetic diseases. *FEBS J* 2011;278(18):3226–45.
 15. Hopper-Borge E., Chen Z.S., Shchhaveleva I. et al. Analysis of the drug resistance profile of multidrug resistance protein 7 (ABCC10): resistance to docetaxel. *Cancer Res* 2004;64(14):4927–30.
 16. Kruh G.D., Guo Y., Hopper-Borge E. et al. ABCC10, ABCC11, and ABCC12. *Pflügers Arch* 2007;453(5):675–84.
 17. Bera T.K., Iavarone C., Kumar V. et al. MRP9, an unusual truncated member of the ABC transporter superfamily, is highly expressed in breast cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 2002;99(10):6997–7002.
 18. Mao Q., Unadkat J.D. Role of the breast cancer resistance protein (ABCG2) in drug transport. *AAPS J* 2005;7(1):E118–33.
 19. Jani M., Ambrus C., Magnan R. et al. Structure and function of BCRP, a broad specificity transporter of xenobiotics and endobiotics. *Arch Toxicol* 2014;88(6):1205–48.
 20. Noguchi K., Katayama K., Sugimoto Y. Human ABC transporter ABCG2/BCRP expression in chemoresistance: basic and clinical perspectives for molecular cancer therapeutics. *Pharmgenomics Pers Med* 2014;7:53–64.
 21. Shukla S., Ohnuma S., Ambudkar S.V. Improving cancer chemotherapy with modulators of ABC drug transporters. *Curr Drug Targets* 2011;12(5):621–30.
 22. Sosnik A. Reversal of multidrug resistance by the inhibition of ATP-binding cassette pumps employing “Generally Recognized As Safe” (GRAS) nanopharmaceuticals: A review. *Adv Drug Deliv Rev* 2013;65(13–14):1828–51.
 23. Cheung L., Flemming C.L., Wätt F. et al. High-throughput screening identifies Ceefourin 1 and Ceefourin 2 as highly selective inhibitors of multidrug resistance protein 4 (MRP4). *Biochem Pharmacol* 2014;91(1):97–108.
 24. Schinkel A.H., Jonker J.W. Mammalian drug efflux transporters of the ATP binding cassette (ABC) family: an overview. *Adv Drug Deliv Rev* 2003;55(1):3–29.
 25. Kathawala R.J., Wang Y.J., Ashby C.R. Jr, Chen Z.S. Recent advances regarding the role of ABC subfamily C member 10 (ABCC10) in the efflux of antitumor drugs. *Chin J Cancer* 2014;33(5):223–30.
 26. Honorat M., Mesnier A., Vendrell J. et al. ABCC11 expression is regulated by estrogen in MCF7 cells, correlated with estrogen receptor alpha expression in postmenopausal breast tumors and overexpressed in tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Endocr Relat Cancer* 2008;15(1):125–38.
 27. Sodani K., Patel A., Kathawala R.J., Chen Z.S. Multidrug resistance associated proteins in multidrug resistance. *Chin J Cancer* 2012;31(2):58–72.
 28. Tsuruo T., Iida H., Tsukagoshi S., Sakurai Y. Overcoming of vincristine resistance in P388 leukemia *in vivo* and *in vitro* through enhanced cytotoxicity of vincristine and vinblastine by verapamil. *Cancer Res* 1981;41(5):1967–72.
 29. Slater L.M., Sweet P., Stupecky M., Gupta S. Cyclosporin A reverses vincristine and daunorubicin resistance in acute lymphatic leukemia in vitro. *J Clin Invest* 1986;77(4):1405–8.
 30. Comwell M.M., Pastan I., Gottesman M.M. Certain calcium channel blockers bind specifically to multidrug-resistant human KB carcinoma membrane vesicles and inhibit drug binding to P-glycoprotein. *J Biol Chem* 1987;262(5):2166–70.
 31. Goldberg H., Ling V., Wong P.Y., Skorecki K. Reduced cyclosporin accumulation in multidrug-resistant cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;152(2):552–8.
 32. Falasca M., Linton K.J. Investigational ABC transporter inhibitors. *Expert Opin Investig Drugs* 2012;21(5):657–66.
 33. Pusztaí L., Wágner P., Ibrahim N. et al. Phase II study of tariquidar, a selective P-glycoprotein inhibitor, in patients with chemotherapy-resistant, advanced breast carcinoma. *Cancer* 2005;104(4):682–91.
 34. Annereau J.P., Szakács G., Tucker C.J. et al. Analysis of ATP-binding cassette transporter expression in drug-selected cell lines by a microarray dedicated to multidrug resistance. *Mol Pharmacol* 2004;66(6):1397–405.
 35. Szakács G., Annereau J.P., Lababidi S. et al. Predicting drug sensitivity and resistance: profiling ABC transporter genes in cancer cells. *Cancer Cell* 2004;6(2):129–37.
 36. Gillet J.P., Efferth T., Steinbach D. et al. Microarray-based detection of multidrug resistance in human tumor cells by expression profiling of ATP-binding cassette transporter genes. *Cancer Res* 2004;64(24):8987–93.
 37. Fletcher J.L., Haber M., Henderson M.J., Norris M.D. ABC transporters in cancer: more than just drug efflux pumps. *Nat Rev Cancer* 2010;10(2):147–56.
 38. Piñeiro R., Maffucci T., Falasca M. The putative cannabinoid receptor GPR55 defines a novel autocrine loop in cancer cell proliferation. *Oncogene* 2011;30(2):142–52.
 39. Reid G., Wielinga P., Zelcer N. et al. The human multidrug resistance protein MRP4 functions as a prostaglandin efflux transporter and is inhibited by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(16):9244–9.
 40. Leier I., Jedlitschky G., Buchholz U. et al. The MRP gene encodes an ATP-dependent export pump for leukotriene C4 and structurally related conjugates. *J Biol Chem* 1994;269(45):27807–10.
 41. Peaston A.E., Gardaneh M., Franco A.V. et al. MRP1 gene expression level regulates the death and differentiation response of neuroblastoma cells. *Br J Cancer* 2001;85(10):1564–71.
 42. Robbiani D.F., Finch R.A., Jäger D. et al. The leukotriene C(4) transporter MRP1 regulates CCL19 (MIP-3beta, ELC) – dependent mobilization of dendritic cells to lymph nodes. *Cell* 2000;103(5):757–68.
 43. Randolph G.J., Beaulieu S., Pope M. et al. A physiologic function for p-glycoprotein (MDR-1) during the migration of dendritic cells from skin via afferent lymphatic vessels. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95(12):6924–9.
 44. Miletti-González K.E., Chen S., Muthukumaran N. et al. The CD44 receptor interacts with P-glycoprotein to promote cell migration and invasion in cancer. *Cancer Res* 2005;65(15):6660–7.
 45. Colone M., Calcabrini A., Toccaceli L. et al. The multidrug transporter P-glycoprotein: a mediator of melanoma invasion? *J Invest Dermatol* 2008;128(4):957–71.
 46. Barakat S., Turcotte S., Demeule M. et al. Regulation of brain endothelial cells migration and angiogenesis by P-glycoprotein/caveolin-1 interaction. *Biochem Biophys Res Commun* 2008;372(3):440–6.
 47. Bonnet D., Dick J.E. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997;3(7):730–7.
 48. Moitra K., Lou H., Dean M. Multidrug efflux pumps and cancer stem cells: insights into multidrug resistance and therapeutic development. *Clin Pharmacol Ther* 2011;89(4):491–502.
 49. Barbet R., Peiffer I., Hutchins J.R. et al. Expression of the 49 human ATP binding cassette (ABC) genes in pluripotent embryonic stem cells and in early- and late-stage multipotent mesenchymal stem cells: possible role of ABC plasma membrane transporters in maintaining human stem cell pluripotency. *Cell Cycle* 2012;11(8):1611–20.
 50. Patrawala L., Calhoun T., Schneider-Broussard R. et al. Side population is enriched in tumorigenic, stem-like cancer cells, whereas ABCG2+ and ABCG2– cancer cells are similarly tumorigenic. *Cancer Res* 2005;65(4):6207–19.
 51. Al-Hajj M., Wicha M.S., Benito-Hernandez A. et al. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100(7):3983–8.
 52. Li X., Lewis M.T., Huang J. et al. Intrinsic resistance of tumorigenic breast can-

- cer cells to chemotherapy. *J Natl Cancer Inst* 2008;100(9):672–9.
53. Park S., Shimizu C., Shimoyama T. et al. Gene expression profiling of ATP-binding cassette(ABC) transporters as a predictor of the pathologic response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2006;99(1):9–17.
54. Calcagno A. M., Salcido C. D., Gillet J. et al. Prolonged drug selection of breast cancer cells and enrichment of cancer stem cell characteristics. *J Natl Cancer Inst* 2010;102(21):1637–52.
55. Стромская Т. П., Рыбалкина Е. Ю., Круглов С. С. и др. Участие Р-гликопротеина в эволюции популяций клеток хронического миелолейкоза при воздействии иматиниба. *Биохимия* 2008;73(1):36–46. [Stromskaya T. P., Rybalkina E. Yu., Kruglov S. S. et al. Participation of P-glycoprotein in evolution of chronic myelogenous leukemia cell pool under action of Imatiniba. *Biokhimiya = Biochemistry* 2008;73(1):36–46. (In Russ.)].
56. Guille A., Chaffanet M., Birnbaum D. Signaling pathway switch in breast cancer. *Cancer Cell Int* 2013;13(1):66.
57. Koboldt D. C., Fulton R. S., McLellan M. D. et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature* 2012;490(7418):61–70.
58. Shah S. P., Roth A., Goya R. et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature* 2012;486(7403):395–9.
59. Banerji S., Cibulskis K., Rangel-Escareno K. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature* 2012;486(7403):405–9.
60. Ellis M. J., Ding L., Shen D. et al. Whole-genome analysis informs breast cancer response to aromatase inhibition. *Nature* 2012;486(7403):353–60.
61. VanderWeele D. J., Zhou R., Rudin C. M. Akt up-regulation increases resistance to microtubule-directed chemotherapeutic agents through mammalian target of rapamycin. *Mol Cancer Ther* 2004;3(12):1605–13.
62. Щербакова Е. А., Стромская Т. П., Рыбалкина Е. Ю., Ставровская А. А. Влияние повышения активности опухолевого супрессора PTEN на чувствительность малигнизированных клеток к химиотерапевтическим препаратам. *Биологические мембраны* 2007;24(2):143–50. [Shcherbakova E. A., Stromskaya T. P., Rybalkina E. Yu., Stavrovskaya A. A. Effect of increase in activity of tumour suppressor PTEN for sensibility of malignant cells to the chemotherapy drugs. *Biologicheskie membrany = Biological Membranes* 2007;24(2):143–50. (In Russ.)].
63. Burris H. A. 3rd. Overcoming acquired resistance to anticancer therapy: focus on the PI3K/AKT/mTOR pathway. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71(4):829–42.
64. McCubrey J. A., Steelman L. S., Chappell W. H. et al. Mutations and deregulation of Ras/Raf/MEK/ERK and PI3K/PTEN/Akt/mTOR cascades which alter therapy response. *Oncotarget* 2012;3(9):954–87.
65. Kneuferrmann C., Lu Y., Liu B. et al. HER-2/PI-3K/Akt activation leads to a multidrug resistance in human breast adenocarcinoma cells. *Oncogene* 2003;22(21):3205–12.
66. Ma H., Cheng L., Hao K. et al. Reversal effect of ST6GAL 1 on multidrug resistance in human leukemia by regulating the PI3K/Akt pathway and the expression of P-gp and MRP1. *PLoS One* 2014;9(1):e85113.
67. Cidado J., Park B. H. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway for breast cancer therapy. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 2012;17(3–4):205–16.
68. Lauring J., Park B. H., Wolff A. C. The phosphoinositide-3-kinase-Akt-mTOR pathway as a therapeutic target in breast cancer. *J Natl Compr Canc Netw* 2013;11(6):670–8.
69. Lee R. C., Ambros V. An extensive class of small RNAs in *Caenorhabditis elegans*. *Science* 2001;294(5543):862–4.
70. Melo S. A., Esteller M. Dysregulation of microRNAs in cancer: playing with fire. *FEBS Lett* 2011;585(13):2087–99.
71. Martin H. L., Smith L., Tomlinson D. C. Multidrug-resistant breast cancer: current perspectives. *Breast Cancer (Dove Med Press)* 2014;6:1–13.
72. Agarwal S., Hanna J., Sherman M. E. et al. Quantitative assessment of miR34a as an independent prognostic marker in breast cancer. *Br J Cancer* 2015;112(1):61–8.
73. Brown C. M., Reisfeld B., Mayeno A. N. Cytochromes P450: a structure-based summary of biotransformations using representative substrates. *Drug Metab Rev* 2008;40(1):1–100.
74. Gillet J. P., Gottesman M. M. Mechanisms of multidrug resistance in cancer. *Methods Mol Biol* 2010;596:47–76.
75. Benet L. Z. The drug transporter-metabolism alliance: uncovering and defining the interplay. *Mol Pharm* 2009;6(6):1631–43.
76. Edavana V. K., Penney R. B., Yao-Borengasser A. et al. Fulvestrant up regulates UGT1A4 and MRPs through ER α and c-Myb pathways: a possible primary drug disposition mechanism. *Springerplus* 2013;2:620.
77. Wang Y. M., Lin W., Chai S. C. et al. Piperine activates human pregnane X receptor to induce the expression of cytochrome P4503A4 and multidrug resistance protein 1. *Toxicol Appl Pharmacol* 2013;272(1):96–107.
78. Копнин Б. П. Опухолевые супрессоры и мутаторные гены. В кн.: *Канцерогенез*. Под ред. Д. Г. Заридзе. М.: Медицина, 2004. С. 125–57. [Kopnin B. P. Tumour suppressors and mutator genes. In: *Carcinogenesis*. D. G. Zaridze (ed.). Moscow: Meditsina, 2004. Pp. 125–57. (In Russ.)].
79. Bertheau P., Lehmann-Che J., Varma M. et al. p53 in breast cancer subtypes and new insights into response to chemotherapy. *Breast* 2013;Suppl 2:S27–9.
80. Berger C. E., Qian Y., Liu G. et al. p53, a target of estrogen receptor (ER) α , modulates DNA damage-induced growth suppression in ER-positive breast cancer cells. *J Biol Chem* 2012;287(36):30117–27.
81. Berger C., Qian Y., Chen X. The p53-estrogen receptor loop in cancer. *Curr Mol Med* 2013;13(8):1229–40.
82. Dos Anjos Pultz B., da Luz F. A., de Faria P. R. et al. Far beyond the usual biomarkers in breast cancer: a review. *J Cancer* 2014;5(7):559–71.
83. Baldacchino S., Saliba C., Petroni V. et al. Deregulation of the phosphatase, PP2A is a common event in breast cancer, predicting sensitivity to FTY720. *EPMA J* 2014;5(1):3.
84. Katayama K., Yamaguchi M., Noguchi K., Sugimoto Y. Protein phosphatase complex PP5/PPP2R3C dephosphorylates P-glycoprotein/ABCB1 and down-regulates the expression and function. *Cancer Lett* 2014;345(1):124–31.
85. Perrotti D., Neviani P. Protein phosphatase 2A: a target for anticancer therapy. *Lancet Oncol* 2013;14(6):e229–38.
86. Ataseven B., Gunesch A., Eiermann W. et al. PTK7 as a potential prognostic and predictive marker of response to adjuvant chemotherapy in breast cancer patients, and resistance to anthracycline drugs. *Onco Targets Ther* 2014;7:1723–31.
87. Yang Y. Wnt signaling in development and disease. *Cell Biosci* 2012;2(1):14.
88. Peradziryi H., Kaplan N. A., Podleschny M. et al. PTK7/Otk interacts with Wnts and inhibits canonical Wnt signalling. *EMBO J* 2011;30(18):3729–40.
89. Васильев Ю. М., Гельфанд И. М. Взаимодействие нормальных и неопластических клеток со средой. М.: Наука, 1981. 820 с. [Vasilyev Yu. M., Gelfand I. M. Interaction between normal and neoplastic cells and environment. Moscow: Nauka, 1981. 820 p. (In Russ.)].
90. Yamashiro S., Yamakita Y., Ono S., Matsumura F. Fascin, an actinbundling protein, induces membrane protrusions and increases cell motility of epithelial cells. *Mol Biol Cell* 1998;9(5):993–1006.
91. Yoder B. J., Tso E., Skacel M. et al. The expression of fascin, an actin-bundling motility protein, correlates with hormone receptor negative breast cancer and a more aggressive clinical course. *Clin Cancer Res* 2005;11(1):186–92.
92. Ghebeh H., Al-Khalidi S., Olabi S. et al. Fascin is involved in the chemotherapeutic resistance of breast cancer cells predominantly via the PI3K/Akt pathway. *Br J Cancer* 2014;111(8):1552–61.
93. Елисеева И. А., Ким Е. Р., Гурьянов С. Г. и др. Y-бокс-связывающий белок 1 (YB-1)

- и его функции. Успехи биологической химии 2011;51:65–132. [Eliseeva I. A., Kim E. R., Gur'yanov S. G. et al. Y-box-binding protein 1 (YB-1) and its functions. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry* 2011;51:65–132. (In Russ.)].
94. Скабкин М. А., Скабкина О. В., Овчинников Л. П. Мультифункциональные белки с доменом холодового шока в регуляции экспрессии генов. Успехи биологической химии 2004;44:3–51. [Skabkin M. A., Skabkina O. V., Ovchinnikov L. P. Multifunctional proteins with cold shock domain in regulation of gene expression. *Uspekhi biologicheskoy khimii = Advances in Biological Chemistry* 2004;44:3–51. (In Russ.)].
95. Davicioni L. P., Triche T. J. E., Sorensen P. H. Translational activation of snail1 and other developmentally regulated transcription factors by YB-1 promotes an epithelial-mesenchymal transition. *Cancer Cell* 2009;15(5):402–15.
96. Ohga T., Uchiumi T., Makino Y. et al. Direct involvement of the Y-box binding protein YB-1 in genotoxic stress-induced activation of the human multidrug resistance 1 gene. *J Biol Chem* 1998;273(11):5997–6000.
97. Stein U., Bergmann S., Scheffer G. L. et al. YB-1 facilitates basal and 5-fluorouracil-inducible expression of the human major vault protein (MVP) gene. *Oncogene* 2005;24(22):3606–18.
98. Jurchott K., Bergmann S., Stein U. et al. YB-1 as a cell cycle-regulated transcription factor facilitating cyclin A and cyclin B1 gene expression. *J Biol Chem* 2003;278(30):27988–96.
99. Kuwano M., Oda Y., Izumi H. et al. The role of nuclear Y-box binding protein 1 as a global marker in drug resistance. *Mol Cancer Ther* 2004;3(11):1485–92.
100. Matsumoto K., Bay V. H. Significance of the Y-box proteins in human cancers. *J Mol Genet Med* 2005;1(1):11–7.
101. Генс Г. П., Ставровская А. А. Белок YB-1 как фактор прогноза при раке молочной железы. Вестник РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН 2010;21(1):3–10. [Guens G. P., Stavrovskaya A. A. Белок YB-1 как фактор прогноза при раке молочной железы. *Vestnik RONC im. N. N. Protein YB-1 as forecast factor at breast cancer. Bulletin of N. N. Blokhin NN Blokhin Russian Cancer Research Center at RAMS* 2010;21(1):3–10. (In Russ.)].
102. Stavrovskaya A., Stromskaya T., Rybalkina E. et al. YB-1 protein and multi-drug resistance of tumor cells. *Curr Signal Transduct Ther* 2012;7(3):237–46.
103. Guens G. P., Moiseeva N. I., Ovsii O. G. et al. Marker-adjusted personalized chemotherapy of breast cancer. *Global J Breast Cancer Res* 2014;2:19–26.
104. Yang H., Liu Y., Bai F. et al. Tumor development is associated with decrease of TET gene expression and 5-methylcytosine hydroxylation. *Oncogene* 2013;32(5):663–9.
105. Lu H. G., Zhan W., Yan L. et al. TET1 partially mediates HDAC inhibitor-induced suppression of breast cancer invasion. *Mol Med Rep* 2014;10(5):2595–600.
106. Kastl L., Brown I., Schofield A. C. Altered DNA methylation is associated with docetaxel resistance in human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2010;36(5):1235–41.
107. Jovanovic J., Rønneberg J. A., Tost J., Kristensen V. The epigenetics of breast cancer. *Mol Oncol* 2010;4(3):242–54.
108. Hartmann O., Spyrtos F., Harbeck N. et al. DNA methylation markers predict outcome in node-positive, estrogen receptor-positive breast cancer with adjuvant anthracycline-based chemotherapy. *Clin Cancer Res* 2009;15(1):315–23.
109. Dejeux E., Rønneberg J. A., Solvang H. et al. DNA methylation profiling in doxorubicin treated primary locally advanced breast tumours identifies novel genes associated with survival and treatment response. *Mol Cancer* 2010;9:68.
110. Рыбалкина Е. Ю., Павлова Г. В., Ставровская А. А. Новое в исследовании глиобластом. Биологические мембраны 2014;31(6):1–13. [Rybalkina E. Yu., Pavlova G. V., Stavrovskaya A. A. News of glioblast research. *Biologicheskie membrany = Biological Membranes* 2014;31(6):1–13. (In Russ.)].
111. Chae Y. K., Gonzalez-Angulo A. M. Implications of functional proteomics in breast cancer. *Oncologist* 2014;19(4):328–35.